猪链球菌2型毒力因子研究新进展*

刘静贤[1]　何欣[1**]　韩慧明[1,2**]

(1 北华大学基础医学院 吉林 132013　2 北华大学基础医学院临床免疫研究中心　吉林　132013)

摘要 猪链球菌是一种传染性革兰氏阳性细菌，是严重影响养猪业发展的重要人畜共患病原体，造成人类死亡率在5%到20%之间。其毒力因子在致病过程中发挥着重要作用。近年来对猪链球菌2型的毒力因子研究有诸多新的进展，对其致病机理的了解和对该病有效防控都有新的认识。本文对近些年研究2型猪链球菌毒力相关因子，在蛋白类、酶类研究新进展，同时对毒力因子基因表达双组份系统、与宿主免疫系统相互作用的IV型分泌系统的进展进行总结和分析，以期为猪链球菌病的治疗和疫苗的研制提供新参考。

关键词 猪链球菌2型　毒力因子　致病机理

中图分类号　S852.61

猪链球菌2型(*Streptococcus suis* serotype 2, SS2)为兼性厌氧的革兰氏阳性溶血性球菌，是人畜共患病原。猪感染后能引起包括脑膜炎、关节炎、流产、脓肿、败血症和感染性心内膜炎和死亡[1-3]。人感染SS2可以引起脑膜炎，心内膜炎和中毒性休克综合征等疾病。1998 年江苏部分地区爆发流行性猪链球菌病，大批猪死亡，25人感染发病，14人死亡，其中13人死于中毒性休克综合征。2005 年四川资阳爆发了大规模SS2感染人的公共卫生事件，38人死亡。可见SS2不仅造成养猪业的重大损失，而且还给相关从业人员带来生命财产安全的威胁[4]，引起国内外的广泛关注[5]。根据SS的荚膜多糖抗原差异，将其分为35个血清型(1~34型和1/2型)[6]，其中猪链球菌2型流行最广、致病性最强，对其相关毒力因子研究也有较为系统的综述，如从多糖类、蛋白类、酶类和毒力岛方面进行过总结[7]。但近年来随着研究细致和深入，产生了诸多新的进展和认识，下文总结近十年来国内外SS2毒力因子研究在蛋白类、酶类研究新进展，同时阐述了毒力因子基因表达双组份系统、与宿主免疫系统相互作用的IV型分泌系统的新内容。

[1] *吉林省教育厅科学技术研究项目资助课题(2015146)北华大学博士启动基金资助课题

** 通讯作者 何欣 1307068455@qq.com　韩慧明　huiminghan@hotmail.com

1. 蛋白类

除了荚膜多糖,细胞外蛋白质因子，纤连蛋白结合蛋白,溶菌酶释放蛋白, 38 kDa细菌表面蛋白, 溶血素六种已经公认的毒力蛋白因子外[7]，又发现了表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor　EGFR)，锰蛋白（MntE）等毒力相关蛋白。

1.1 表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor　EGFR)

表皮生长因子受体(EGFR)启动细胞内信号转导并调节宿主炎症反应。 Yang等[8]研究发现猪链球菌SC19株感染人脑微血管内皮细胞（hBMEC）时，以配体依赖的方式诱导细胞EGFR的酪氨酸磷酸化，涉及EGF样配体HB-EGF，双调蛋白(AREG)和上皮调节蛋白(EREG)并导致EGFR / ErbB3异源二聚化。EGFR反式激活不参与SS2菌株SC19粘附hBMEC，以及体内细菌定植。然而，其反式激活通过触发hBMEC中的MAPK-ERK1 / 2和NF-κB信号传导途径促进细菌诱导的神经炎症，促进促炎性细胞因子和趋化因子的产生。这些观察结果提出了一种在大脑中SS2介导的炎症反应中涉及EGFR的新机制，因此，EGFR可能是进一步研究和预防由SS2菌株引起的神经炎症的重要宿主靶标。

1.2 锰蛋白（MntE）

锰是细菌的必需微量营养素，在细菌生理功能中发挥重要作用。但是，过量的锰对细胞是非常有害的。锰外排系统用于控制一些细菌的细胞内锰水平。Xu等[9].通过确定一种阳离子家族蛋白(MntE)，并构建*mntE*缺失突变体(*ΔmntE*)和互补菌株(*CΔmntE*)。与正常生长条件下的野生型和互补菌株相比，*ΔmntE*表现出类似的生长，但在补充有高浓度锰的培养基中生长就有缺陷。另外，突变体对二酰胺赋予的氧化应激更敏感。在小鼠感染模型中使用竞争性感染测定，首次证明了MntE参与了2型猪链球菌的毒力表达，数据表明锰外排系统MntE控制的锰稳态在SS2致病机制中扮演着重要的角色。

1.3 Ⅰ型限制和修饰系统的宿主特异性决定因素的特异性亚基(The host specificity determinant specificity subunit. hsdS)

在吞噬细胞和全血中能够抗吞噬和存活是细菌致病的必要条件。通过调节Ⅰ型限制和修饰系统的宿主特异性决定因素的特异性亚基(*hsdS*)水平来调控肽聚糖结合蛋白，促进SS2对小胶质细胞（BV2）的抗吞噬作用。此外，基于对基因突变体与野生型~~SS2~~之间特征差异的统计分析，不处于酸性条件下，它们在BV2，全血和过氧化环境(H_2O_2)中的存活显着增加($p<0.05$)，~~.~~相比之下，由*hsdS'*编码的属于相同I型限制-修饰系统的另一个特异性亚基仅显著降低了SS2在酸性条件下以基因缺失突变体形式的存活能力($p<0.05$)，但与野生型SS2相比，对上述其他条件下的存活能力没有显着影响或具有增强的抗吞噬作用。所以，*hsdS*通过积极

地影响两个肽聚糖结合蛋白基因的转录，增强对活性氧的抗性，并减少吞噬细胞分泌TNF-α和一氧化氮，从而在不利宿主环境中促进细菌抗吞噬作用和存活。这些发现揭示了SS2发病的新机制[10]。

1.4 Mac 蛋白

Xiao 等[11]对具有 Mac-1 结构域的猪链球菌蛋白(称为 Mac)在没有特异性 IgM 的天然健康宿主中进行了研究。在研究中，通过同源重组在 SS2 毒力参考株 P1/7 中构建 *mac* 基因缺失突变体。 *mac* 基因的缺失并基本不影响小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中的吞噬作用或者是其在细胞内的存活。此外，突变体在猪、小鼠和斑马鱼感染模型中与野生型毒株一样具有毒性。结果表明，在猪链球菌菌株 P1/7 中的 Mac 蛋白对于在没有特异性 IgM 的天然健康宿主中的毒力是不必要的，并且 Mac 的免疫原性似乎也与其毒力不相关。

1.5 因子 H(Factor H.FH)

因子H(FH)是补体系统的调节蛋白，可特异性结合猪链球菌2型(SS2)的H因子结合蛋白(FHBP)，这有助于逃避宿主先天免疫防御。Li等 [12]选择了8个SS2新鉴定的FHBP蛋白质，与抗FHBPs多克隆抗体预温育后，SS2与固定化FH的结合显著降低；在小鼠腹腔攻毒模型中证实与FH预处理的SS2相比，未用FH预处理的SS2增加了菌血症和脑入侵。结果表明FH与细胞表面的结合提高了SS2对HEp-2细胞的粘附和侵入，促进SS2抗吞噬在宿主体内存活下去。

1.6 环磷酸腺苷受体蛋白(Cyclin adenosinmonophosphat, cAMP)

*SSU05-0736*编码cAMP受体蛋白，为转录调控蛋白，属于Crp/Fnr转录调控因子家族。利用同源重组构建基因缺失株*Δ0736*，在实验中并未发现突变株和野生株在生物活性和毒力方面有显著差异，但是突变株生长缓慢且增长率较大。cAMP受体蛋白不是SS2直接的决定性毒力因子，可能是通过转录激活碳代谢相关蛋白影响细菌代谢功能来潜在的实现对SS2的毒力调控，说明cAMP受体蛋白也是SS2的一个潜在的毒力相关蛋白[13]。

1.7 CodY和SPX结构域蛋白(Control of dipeptide transport operon (*dpp*))

CodY和SPX都是一个转录水平的全局调控因子，在低GC含量的革兰氏阳性菌中高度保守。CodY是由两个亚基为29kDa构成的保守二聚体结构，属于lacI蛋白家族，有两个效应因子三磷酸鸟苷(Guanosine triphosphate，GTP)和支链氨基酸(Branched chain amino acids ，BCAA)，参与细菌的氮和碳的代谢。在SS2中，*codY*基因缺失后发现，突变株对Hep-2细胞的粘附和侵袭能力下降；在RAW246.7细胞中，*codY*突变菌株很快被巨噬细胞所清除，这说明CodY是SS2的一个毒力因子[14]。SPX结构域是由在氨基端含有相对保守的共同结构域的酵母

(SYG1, Pho81)和人类(XPR1)蛋白首字母缩写命名的[15-17]，是一组全局转录调控因子。Zhang等[18]通过构建基因缺失株*SpxA1*和*SpxA2*，研究发现两个突变株不仅在表型上发生变化，毒力和野生株相比也明显降低，可见SPX结构域蛋白在SS2的致病过程中也发挥着重要的作用。

1.8 溶血相关蛋白(Hypothetical haemolysin-III related protein 3, HHly3)

Li等[19]在89K毒力岛上发现了一个新的溶血相关蛋白HHly3，分子量为78kDa，膜通道蛋白，属于溶血素III超家族。对其氨基酸编码序列分析显示与IV型分泌系统有相同的保守序列，所以它可能参与组成IV型分泌系统，具有IV型分泌系统的功能，如参与能量代谢等，以此来潜在影响SS2的毒力。构建其基因缺失突变株发现对细胞Hep-2的粘附能力减弱，生物膜形成能力减低，对斑马鱼致病力实验显示突变株毒力明显下降。同时通过Westen-blot检测重组HHly蛋白具有良好的免疫原性[20]。这说明HHly3是在SS2的感染过程中发挥着重要的作用，是SS2的一个新的毒力因子。

2．酶类

2.1 透明质酸裂解酶(Hyaluronic acid lyase, HYL)

HYL是一种由β-1-4-N-乙酰葡聚糖胺-葡糖醛酸聚合物组成的线性的大分子的氨基葡聚糖，广泛存在于哺乳动物体内各个组织中，参与形成细胞外基质。HYL将透明质酸酶降解的作用不仅提供细菌自身生长可利用吸收的二糖，而且还通过改变细胞外基质通透性来进入宿主体内。很显然，这与其致病机理密切相关。Haas等[21]研究发现，在感染的过程中，SS2和宿主细胞相互作用时，发现HYL调节SS2对脑微血管内皮细胞(BMEC)的粘附，增加了猪链球菌毒力因子的表达，通过BMEC加强了促炎性因子的释放。

2.2 S-核糖基高半胱氨酸酶 (Luciferase, LuxS)

LuxS是全局调控因子，属于LuxS蛋白家族，是自诱导物质(autoinducer，AI)AI-2信号分子的合成酶，属于密度感应系统；同时还是甲基活化过程中的代谢酶，在代谢过程中起着重要的作用。在SS2中强毒株05ZYH33的研究中发现，*luxS*缺失会引起生长缓慢，荚膜变薄等一系列表型变化，对Hep-2的粘附能力也下降。用突变株和野生株攻击仔猪时，突变株致死率明显降低，在宿主体内的定植能力也下降，而功能互补株和野生株近似[22]，这说明LuxS是SS2毒力调控的重要因子。王洋等[23]也通过实验证实在LuxS中Phe80和His87两个位点和AI-2的活性直接相关，也就间接的控制着SS2的一些毒力基因的表达。

2.3 N-乙酰神经氨酸(N-acetyl neuraminic acid B, NeuB)

N-乙酰神经氨酸又称唾液酸，主要存在于细菌的荚膜多糖中，粘附巨噬细胞，具有抗

吞噬功能。董瑞萍等[24]通过基因重组构建*neuB*基因缺失突变株和互补株，发现缺失突变株荚膜变薄，对pH值敏感，对喉癌黏膜细胞(Hep-2)粘附能力下降，和亲本株相比毒力明显下降，而互补株毒力恢复，和亲本株相近。NeuB不仅能诱导宿主细胞释放促炎性因子而且能加速IL-8的分泌，其突变株在全血中很容易被清除[25]。朱静等进一步证实唾液酸合成酶NeuB是通过抑制激活宿主免疫细胞TLR2-AKT-NF-κB信号转导通路，从而逃避宿主巨噬细胞的吞噬[26]。因此，NeuB与SS2致病性相关，是一个新的毒力因子。

2.4 肽聚糖脱乙酰酶(Peptidoglycan deacetylase, PgdA)

PgdA是氧化应激反应诱导酶，参与调节肽聚糖的N-脱乙酰基作用,属于糖脂酶家族Ⅳ。PgdA活性加强，引起肽聚糖脱乙酰基，脱了乙酰基的肽聚糖能使细菌免受溶菌酶的水解。研究发现肽聚糖乙酰化的程度决定了肽聚糖对人粘膜溶菌酶抗性的大小[27]。猪链球菌的*pgdA*由1398个碱基组成，体内和体外实验均显示SS2感染时可加强*pgdA*的表达。~~其又~~通过基因敲除构建该基因的缺失突变株*Δpgd A*，和亲本株相比，发现突变株对溶菌酶敏感性降低，易被吞噬，毒力明显下降，*ΔpgdA*菌株在被感染的仔猪体内也很快被清除[28]。这说明PgdA 是SS2的一个毒力相关因子。

2.5 谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase A,GlnA)

在微生物体内，GlnA参与细菌和真核生物生物体内的碳和氮代谢，而且是氮代谢途径的核心酶之一，参与氨的转化和谷氨酰胺的合成，同时也为合成多种氨基酸提供氮源。通过基因敲除构建SS2基因*glnA*的突变株：Δ*glnA*株中发现，与野生株相比，生长缓慢，且其缺失株对Hep-2的粘附能力显著下降。在研究致病力的试验中发现：LD50实验Δ*glnA*的LD50是$1.4X10^{10}$，WT的LD50是$4.44X10^{7}$,说明Δ*glnA*毒力明显下降；组织活菌动态分布实验结果显示，Δ*glnA*在感染组小鼠的各个组织器官活菌数量显著降低。这说明GlnA在SS2感染过程中，尤其在粘附和定植过程中发挥重要作用[29]。

2.6 烯醇化酶(Enolase, Eno)

Eno是糖酵解过程中的重要酶，能对猪脑微血管内皮细胞(PBMEC)直接产生毒性，促进细胞凋亡，抑制紧密连接表达或者是通过激活猪脑微血管内皮细胞的ERK和p38MAPKz信号通路分泌IL-8促炎性因子，从而增加血脑屏障的通透性等[30]。.霍春月等[31]成功构建高纯度的hisSsEno重组表达蛋白，通过抗体阻封和全血杀伤模型发现SsEno是SS2一个潜在的抗吞噬因子，且能特异性的结合人纤维蛋白原(hFg)。 Pian等[32]也证实Eno也能显著抑制SS2对人纤维蛋白原的结合，提高SS2对中性粒细胞的抗吞噬作用，同时也加强了其在血液中的生存能力。说明Eno是SS2的一个毒力相关因子。

2.7 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SodA)

SodA主要作用涉及到细菌在吞噬细胞内的存活，吞噬细胞吞噬细菌后通过呼吸爆发释放超氧化物，如NO自由基等，这些物质可以破坏细菌的DNA、蛋白质等。细菌分泌的SodA能清除超氧化物使自己免受损伤。超氧化物歧化酶编码201个氨基酸，通过构建突变株，在体外和细胞实验中都发现，突变株比野生株更容易被引起的氧化反应所抑制，更容易被免疫系统所杀灭，这说明它在SS2的致病过程中起着重要作用[33]。

2.8 内皮素转化酶1 (Endothelin-converting enzyme, ECE1)

内皮素转化酶1是生物体内合成内皮素的限速酶，进而调节内皮素的生物学活性,属于M13金属多肽酶家族。谭臣[34]通过对突变株进行基因表达谱芯片研究发现共有249个基因表达发生改变，其中下调基因*SSU05-0153*表达最为明显，为44倍，该基因编码内皮素转化酶1 (*ece1*)，由609个氨基酸组成，该基因缺失后SS2的繁殖能力几乎没改变，粘附能力下降，但在动物实验中发现突变株感染的仔猪成活率明显增高，说明毒力明显减弱，证明该基因是SS2的一个新毒力相关基因。

3.双组份转录调控系统（the two-component system, TCS）

在中国猪链球菌流行株15个可能双组分系统（Two Component System, TCS）系统：其中5个已经被证实：*salK -salR*[35, 36]，*ciaR - ciaH*[37] , *ihk-ihr*[38]， *virR/virS*[39]和*nisK-nisR*[40]，它们与毒力的表达调控相关。*salK-salR* 的敲除株显著下调了26个基因的表达水平，对多核形白细胞的杀伤更加敏感[35]；另人惊讶的是，更一个研究团队对这对双组分系统的研究表明，它们还具有调节猪链球菌产生的具有生物活性的抗菌肽suicine合成功能[36]。*ciaR – ciaH*这对双组分，研究者已经证实它们在CD-1小鼠及猪感染SS2的动物模型中是需要的[37]。另一项研究表明，Ihk/Irr这对双组分系统通过调节细菌的生理代谢在SS2的毒力中发挥作用[38]。最近的研究表明两对双组分系统(VirR/VirS 和 NisK/R)被证实在SS2的毒力中是必需的。

还有三个孤儿调节因子(CovR[41], RevSC21 [36],和RevS[42, 43])。孤儿调节因子revSC21参与正向调控毒力因子（例如：*mrp*，*sly*，*cps*）的表达[44]，它是细菌发病机制中所必需的。与之相反，并不是所有调节因子都与细菌的毒力表达正相关，研究表明孤儿调节因子CovR与SS2的致病性负相关，SS2的 Δ*covR*突变株表现出更肥厚的荚膜及更强的溶血性，并且突变株与上皮细胞的粘附能力更强，抗PMN及单核细胞吞噬的能力增强。突变株的毒力比野生株更强[41]。这些现象表明双组分系统在SS2与宿主的相互作用及致病过程中发挥的作用是复杂的，还需进一步的研究及探索。

4. IV型分泌系统(Type IV Secretion System, T4SS)

IV型分泌系统(T4SS)中的*virD4*基因在~~特定于~~SS2最近流行株的89K致病岛内,其作用促成中毒性休克综合征的发展。Jiang等[45]研究发现 *virD4*的删除导致毒性降低，如LD50约65%，肝脏和大脑中显示较低的细菌负荷，以及小鼠或细胞中炎性细胞因子的表达水平低于其亲本菌株， *ΔVirD4*突变体更容易被吞噬。模拟细菌暴露于吞噬细胞呼吸爆发状态下，体内氧化应激上调了细菌*virD4*的表达。蛋白质组学分析鉴定了氧化胁迫下亲本株和突变菌株之间显着差异的10种分泌蛋白质，包括肽基脯氨酰异构酶(PrsA)。在大肠杆菌中表达的SS2 PrsA，可引起小鼠巨噬细胞中的剂量依赖性细胞死亡和促炎细胞因子IL-1β，IL-6和TNF-α的表达。*VirD4*可能通过其抗吞噬活性，其在氧化应激后的表达上调和其参与作为细胞死亡诱导剂和促炎效应物的PrsA分泌增加。

5.其它毒力相关因子

甘油磷酸二脂磷酸二酯酶(Glycerin dihydrogen phosphate ester phosphodiesterase, GdpP)蛋白是一种能降低二腺苷单磷酸的循环磷酸二酯酶，*gdpP*突变株在溶血活性和对Hep-2细胞的粘附能力方面都有显著降低[46]。SS2蛋白分支酸合成酶(AroC)在RAW264.7中通过p38MAPK和NF-kB通路促进TLR4依赖的炎性反应[47]。葡萄糖抑制的分裂蛋白(Glucose-inhibited division protein, GidA)是tRNA的功能修饰酶，*gidA*缺失会引起细菌生长缺陷，夹膜变厚；突变株致死率下降，细胞粘附能力下降，抗吞噬能力增强[48]。*SSU0448*参与N-乙酰半乳糖胺和半乳糖胺的代谢，突变株、野生株和功能互补株在致病性上无明显差异，但是革兰氏染色发现突变菌株的成链能力下降，延缓了SS2发病过程，而互补株成链能力得到恢复，这说明*SSU0448*基因参与调控SS2成链能力，间接影响了SS2的致病力[49]。

最近的研究表明，至少有9个多功能的转录调节因子被认为参与SS毒力的调控， 5个经过深入研究的*adcR*[50]，*ccpA* [51, 52]，*argR*[53], *rgg*[54], PerR[55]，另外加上4个所知甚少的转录因子，如*00SSU005*，*treR*，*nadR*和*scrR*[56]，AdcR为锌离子转运的调节子，如果表其达受阻，在小鼠感染的模型中细菌的毒力下降[50]。与之相反的是，SS2的另一个锌离子吸收的调节子Zur，在猪的感染模型中，它对SS2的毒力并不是必需的[57]。CcpA是一种转录调控蛋白，主要介导细菌的碳源代谢，而细菌在宿主体内存活关键在于对碳源的利用，突变株生长速度减慢，定植能力下降，小鼠致病性试验中突变株毒力下降，突变株的荚膜显著变薄，对猪的PMN的杀伤变得更加敏感，证明了*ccpA*基因与SS2的毒力相关[33, 51, 52]，ArgR是精氨酸抑制家族成员之一，近来被证实其与编码精氨酸脱亚胺酶的*arcABC*操纵元调控表达相关，所以被

认为是一个潜在的毒力因子[53, 58]。Rgg调节子被发现在SS2中，在细菌的代谢活动中发挥多方面的作用，并且在猪的SS2感染中不可缺少。调节子PerR被证实通过调控过氧化氢抗性蛋白编码基因*dpr*及甲硫氨酸转运蛋白编码基因*metQIN*来参与SS2的毒力。

这些蛋白及调节因子在SS2感染过程中直接或间接参与SS2的致病力，但在致病机理中如何发挥作用有待进一步研究。

6.结论与展望

猪链球菌 2 型严重威胁着生猪养殖工业和人类公共卫生事业，防控形势依然严峻。目前国内外很多学者对 SS2 的毒力因子做了大量深入的研究，近年来不断有新的关于 SS2 可能致病因子报道，很多团队进行了毒力因子对菌株致病力影响强弱方面研究，研究发现，这些相关因子并非真正意义上的主要毒力因子，其存在与否并不能决定该菌致病性的强弱，即 SS2 也许还有其它未知毒力因子存在， 而且其致病也可能是多种毒力因子共同作用的结果，毒力因子之间的关系可能是互补的，即其中一种因子的部分功能可由另一因子完成。~~所以~~虽然学术界认为 SS2 有强毒株和弱毒株之分，但并不能确定致病和非致病区分的统一标准，也尚未发现明确区分毒力株、弱毒株和无毒力株的标志性毒力因子。在已有的 SS2 毒力因子研究中，结果显示毒力因子可能在以下几个方面发挥作用：抗吞噬，避免细菌受到溶菌酶的杀伤 [6, 12, 24-26, 28, 59]；协助粘附的功能[9, 23, 29, 32, 60]；刺激机体产生炎症因子[6, 59, 61]；参与细菌物质及能量代谢的等功能[1-3, 10, 11, 13] [14-17, 33]。但许多学者现在认为，这些蛋白可能并不是毒力因子，但它们的合成恰好与毒力有关[62]。此外， SS2 是否还存在其它尚未发现的其它毒力因子？因此，各毒力因子的作用机制、因子之间相互作用关系以及新毒力因子探索与发掘等深入研究是今后的重点；近期针对毒力因子的研究工作为发现新的保护性抗原，~~深入~~研究新的减毒活疫苗的生物学功能提供了重要的参考依据，为寻找与毒力密切相关的新的抗原奠定了工作基础，促进了对 SS2 致病机理的深入认识，加深了对毒力因子致病性的理解，为新治疗性药物筛选、疫苗设计开发提供理论指导及帮助，以便于制定科学、合理的疫病防控措施。

参考文献

[1]. Fittipaldi N, Segura M, Grenier D,et al. Virulence factors involved in the pathogenesis of the infection caused by the swine pathogen and zoonotic agent Streptococcus suis. Future Microbiology, 2012, 7(2):259-279.

[2]. Gottschalk M, Segura M, Xu J. Streptococcus suis infections in humans: the Chinese experience and the situation in North America. Animal Health Research Reviews, 2007, 8(1):29-45.
[3]. Zhang A, Chen B, Yuan Z, et al. HP0197 Contributes to CPS Synthesis and the Virulence of Streptococcus suis via CcpA. PLoS One, 2012, 7(11):e50987.
[4]. Gottschalk M, Xu J, Calzas C, et al. Streptococcus suis: a new emerging or an old neglected zoonotic pathogen? Future Microbiology, 2010, 5(3):371-391.
[5]. Chen C, Tang J, Dong W, et al. A Glimpse of Streptococcal Toxic Shock Syndrome from Comparative Genomics of S. suis 2 Chinese Isolates. PLoS One, 2007, 2(3):e315.
[6]. Al-Numani D, Segura M, Doré M, et al. Up-regulation of ICAM-1, CD11a/CD18 and CD11c/CD18 on human THP-1 monocytes stimulated by Streptococcus suis serotype 2. Clinical & Experimental Immunology, 2003, 133(1):67-77.
[7]. 郭莉莉, 徐成刚, 张建民, 等. 猪链球菌 2 型毒力相关因子的研究进展. 中国畜牧兽医, 2010, 37(1):145-149.
Guo L L, Xu C G , Zhang J M et al.Progress on Virulence-associated Factor of Swine Streptococcus suis Type 2. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine,2010, 37(1):145-149.
[8]. Yang XP, Fu JY, Yang RC, et al. EGFR transactivation contributes to neuroinflammation inStreptococcus suismeningitis. Journal of Neuroinflammation, 2016, 13(1):274.
[9]. Xu J, Zheng C, Cao M, et al. The manganese efflux system MntE contributes to the virulence of Streptococcus suis serotype 2. Microbial Pathogenesis, 2017, 110:23-30.
[10]. Xu B, Zhang P, Li W, et al. hsdS, Belonging to the Type I Restriction-Modification System, Contributes to the Streptococcus suis Serotype 2 Survival Ability in Phagocytes. Frontiers in Microbiology, 2017, 8:1524.
[11]. Xiao G, Wu Z, Zhang S, et al. Mac Protein is not an Essential Virulence Factor for the Virulent Reference Strain Streptococcus suis P1/7. Current Microbiology, 2017, 4(1):90-96.
[12]. Li Q, Ma C, Fu Y, et al. Factor H specifically capture novel Factor H-binding proteins of Streptococcus suis and contribute to the virulence of the bacteria. Microbiological Research, 2017, 196:17-25.
[13]. 钟璟皓, 胡丹, 唐慧娴, 等. 2 型猪链球菌 SSU05_0736 基因敲除株的构建及其特性分析. 医学研究生学报, 2016, 29(6):571-576.
Zhong J H， Hu D， Tang H X, et al. Construction and characterization of cAMP receptor protein knock-out mutant of Streptococcus suis serotype 2. Journal of Medical Postgraduates, 2016, 29(6):571-576.
[14]. Feng L, Zhu J, Chang H, et al. The CodY regulator is essential for virulence in Streptococcus suis serotype 2. Scientific Reports, 2016, 6:21241.
[15]. Spain BH, Koo D, Ramakrishnan M, et al. Truncated forms of a novel yeast protein suppress the lethality of a G protein alpha subunit deficiency by interacting with the beta subunit. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(43):25435-25444.
[16]. Creasy CL, Madden SL, Bergman LW. Molecular analysis of the PHO81 gene of Saccharomyces cerevisiae. Nucleic Acids Research, 1993, 21(8):1975-1982.
[17]. Battini JL, Rasko JEJ, Miller AD. A human cell-surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses: possible role in G protein-coupled signal transduction. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1999, 96(4):1385-1390.

[18].Zheng C, Xu J, Li J, et al. Two Spx regulators modulate stress tolerance and virulence in Streptococcus suis serotype 2. PLoS One, 2014, 9(9):e108197.
[19].Li M, Shen X, Yan J, et al. GI-type T4SS-mediated horizontal transfer of the 89K pathogenicity island in epidemic Streptococcus suis serotype 2. Molecular Microbiology, 2011, 79(6):1670-1683.
[20].郑君希. 猪链球菌 2 型新型溶血相关基因鉴定及功能研究. 南京农业大学, 2013.
Zheng J X. Identification and characterization of a novel hemolysis--related gene in Streptococcus suis serotype 2. Nanjing Agricultural University, 2013.
[21].Haas B, Vaillancourt K, Bonifait L, et al. Hyaluronate lyase activity of Streptococcus suis serotype 2 and modulatory effects of hyaluronic acid on the bacterium's virulence properties. BMC Research Notes, 2015, 8(1):1-11.
[22].操敏. 2 型猪链球菌 AI-2 合成酶 LuxS 的功能鉴定及其在毒力学中的作用. 第三军医大学, 2012.
Cao M. Functional definition of LuxS， an autoinducer-2(AI-2) synthase and its role in full virulence of Streptococcus suis serotype 2. Army Medical University, 2012.
[23].Wang Y, Yi L, Wang S, et al. Crystal Structure and Identification of Two Key Amino Acids Involved in AI-2 Production and Biofilm Formation in Streptococcus suis LuxS. PLoS One, 2015, 10(10):e0138826.
[24].董瑞萍, 王长军, 程功, 等. 猪链球菌 2 型唾液酸合成酶 neuB 基因敲除突变株的构建及其生物学特性. 微生物学通报, 2009, 36(2):238-244.
Dong R P, Wang C J, Chong G, et al. Construction and Function Study of the neuB Gene Encoding Sialic Acid Synthase Knock-out Mutant of Streptococcus suis Serotype 2. Microbiology China, 2009, 36(2):238-244.
[25].Feng Y, Cao M, Shi J, et al. Attenuation of Streptococcus suis virulence by the alteration of bacterial surface architecture. Scientific Reports, 2012, 2:710.
[26].朱静, 胡丹, 刘丽娜, 等. 荚膜唾液酸对猪链球菌激活巨噬细胞 TLR2-AKT-NF-κB 信号通路影响的研究. 微生物学通报, 2013, 40(6):1058-1067.
Zhu J, Hu D, Liu L N, et al. Research on the role of capsular sialic acid in Streptococcus suis activate macrophage TLR2-AKT-NF-κB signaling pathway. Microbiology China, 2013, 40(6):1058-1067.
[27].Vollmer W, Tomasz A. The pgdA gene encodes for a peptidoglycan N-acetylglucosamine deacetylase in Streptococcus pneumoniae. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(27):20496-20501.
[28].Fittipaldi N, Sekizaki T D, Dominguez-Punaro-Mde L, et al. Significant contribution of the pgdA gene to the virulence of Streptococcus suis. Molecular Microbiology, 2008, 70(5):1120-1135.
[29].司有辉. 谷氨酰胺合成酶 GlnA 及其转录调节因子 GlnR 对 2 型猪链球菌致病力影响的研究. 华中农业大学, 2009.
Si Y H. Studies on contribution of glutamine synthetase GlnA and its regulator GlnR to the virulence of Streptococcus suis serotype 2. Huazhong Agricultural University, 2009.
[30].李娜. 猪链球菌 2 型烯醇化酶增强血脑屏障通透性的作用及其机制. 吉林大学, 2014.
Li N. The Effect and the Mechanism of Enolase from Streptococcus Suis Type 2 on Promoting Blood Brain Barrier Permeability. Jilin University, 2014.
[31].霍春月, 纪颖, 任丽丽, 等. 血清型 2 型猪链球菌烯醇化酶参与猪链球菌抗吞噬作用. 细

胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(11):1146-1149.
Huo C Y, Ji Y, Ren L L, et al. Enolase of Streptococcus suis serotype 2 is involved in the antiphagocytosis of Streptococcus suis. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2014, 30(11):1146-1149.
[32].Pian Y, Wang P, Liu P, Zheng Y, Zhu L, Wang H, Xu B, Yuan Y, Jiang Y: Proteomics identification of novel fibrinogen-binding proteins of Streptococcus suis contributing to antiphagocytosis. Frontiers in Cellular & Infection Microbiology, 2015, 5(1):19.
[33].唐宇龙. 猪链球菌 2 型 Sortases、CcpA 和 SodA 功能与致病力研究. 浙江大学, 2012.
Tang Y L. Functional Analysis of Sortases, CcpA and SodA of Streptococcus suis type 2 in Relation to pathogenicity. Zhejiang University, 2012.
[34].谭臣. 猪链球菌 2 型 ECE1 的致病性及 6PGD 蛋白的免疫原性研究. 华中农业大学, 2010.
Tan C.Study on the pathogenicity of Streptococcus suis serotype 2 ECE1 and the Immunogenicity of the 6PGD protein. Huazhong Agricultural University, 2010.
[35].Ming L, Wang C, Feng Y, et al. SalK/SalR, a Two-Component Signal Transduction System, Is Essential for Full Virulence of Highly InvasiveStreptococcus suisSerotype 2. PLoS One, 2008, 3(5):e2080.
[36].Wang J, Gao Y, Teng K, et al. Restoration of Bioactive Lantibiotic Suicin from a Remnant lan Locus of Pathogenic Streptococcus suis Serotype 2. Applied & Environmental Microbiology, 2014, 80(3):1062-1071.
[37].Li J, Tan C, Zhou Y, et al. The two-component regulatory system CiaRH contributes to the virulence of Streptococcus suis 2. Veterinary Microbiology, 2011, 148(1):99-104.
[38].Han H, Liu C, Wang Q, et al. The two-component system Ihk/Irr contributes to the virulence of Streptococcus suis serotype 2 strain 05ZYH33 through alteration of the bacterial cell metabolism. Microbiology, 2012, 158(Pt 7):1852-1866.
[39].Wang H, Shen X, Zhao Y, et al. Identification and proteome analysis of the two-component VirR/VirS system in epidemic Streptococcus suis serotype 2. Fems Microbiology Letters, 2012, 333(2):160-168.
[40].Xu J, Fu S, Liu M, et al. The two-component system NisK/NisR contributes to the virulence of Streptococcus suis serotype 2. Microbiological Research, 2014, 169(7-8):541-546.
[41].Pan X, Ge J, Li M, et al. The Orphan Response Regulator CovR: a Globally Negative Modulator of Virulence in Streptococcus suis Serotype 2. Journal of Bacteriology, 2009, 191(8):2601-2612.
[42].De GA, Buys H, Van AL, et al. Response regulator important in pathogenesis of Streptococcus suis serotype 2. Microbial Pathogenesis, 2002, 33(4):185-192.
[43].Ju AP, Wang CJ, Li M, et al. Construction of RevS gene knock-out mutant of Streptococcus suis serotype 2. Zhonghua liu xing bing xue za zhi, 2008, 29(1):59-64.
[44].Wu T, Chang H, Tan C, et al. The orphan response regulator RevSC21 controls the attachment of Streptococcus suis serotype-2 to human laryngeal epithelial cells and the expression of virulence genes. Fems Microbiology Letters, 2010, 292(2):170-181.
[45].Jiang X, Yang Y, Zhou J, et al. Roles of the Putative Type IV-like Secretion System Key Component VirD4 and PrsA in Pathogenesis of Streptococcus suis Type 2. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2016, 6:172.
[46].Du B, Ji W, An H, et al. Functional analysis of c-di-AMP phosphodiesterase, GdpP, in Streptococcus suis serotype 2. Microbiological Research, 2014, 169(9):749-758.

[47]. 刘建涛, 张强, 宋娅静, 等. 猪链球菌 2 型蛋白分支酸合成酶(AroC)在 RAW264.7 中通过 p38MAPK 和 NF-κB 通路促进 TLR4 依赖的炎性反应. 中国畜牧兽医学会 2014 年学术年会论文集: 2014.

Liu J T, Zhang Q, Song Y J， et al.The inflammatory response of TLR4 depends on the p38MAPK and nf-kappa B pathway in RAW264.7. China animal husbandry and veterinary institute of 2014 academic essays, 2014.

[48]. Gao T, Tan M, Liu W, et al. GidA, a tRNA Modification Enzyme, Contributes to the Growth, and Virulence ofStreptococcus suisSerotype 2. Frontiers in Cellular & Infection Microbiology, 2016, 6(107):44.

[49]. 龚秀芳, 胡丹, 朱旭辉, 等. 2 型猪链球菌 SSU0448 基因敲除突变株的构建及其毒力分析. 微生物学通报, 2015, 42(9):1717-1726.

Gong X F,Hu D, Zhu X H, et al.Construction and virulence analysis of the SSU0448 gene knockout mutant in Streptococcus suis serotype 2. Microbiology China, 2015, 42(9):1717-1726.

[50]. Aranda J, Garrido ME, Fittipaldi N, et al. The cation-uptake regulators AdcR and Fur are necessary for full virulence of Streptococcus suis. Veterinary Microbiology, 2010, 144(1):246-249.

[51]. Willenborg J, Fulde M, De GA, et al. Role of glucose and CcpA in capsule expression and virulence of Streptococcus suis. Microbiology, 2011, 157(Pt 6):1823-1833.

[52]. Tang Y, Wu W, Zhang X, et al. Catabolite control protein a of Streptococcus suis type 2 contributes to sugar metabolism and virulence. Journal of Microbiology, 2012, 50(6):994-1002.

[53]. Fulde M, Willenborg J, De GA, et al. ArgR is an essential local transcriptional regulator of the arcABC operon in Streptococcus suis and is crucial for biological fitness in an acidic environment. Microbiology, 2011, 157(2):572-582.

[54]. Zheng F, Ji H, Cao M, et al. Contribution of the Rgg transcription regulator to metabolism and virulence of Streptococcus suis serotype 2. Infection & Immunity, 2011, 79(3):1319-1328.

[55]. Zhang T, Ding Y, Li T, et al. A Fur-like protein PerR regulates two oxidative stress response related operons dpr and metQIN in Streptococcus suis. Bmc Microbiology, 2012, 12(1):85.

[56]. Wilson TL, Jeffers J, Rapp-Gabrielson VJ, et al. A novel signature-tagged mutagenesis system for Streptococcus suis serotype 2. Veterinary Microbiology, 2007, 122(1):135-145.

[57]. Feng Y, Li M, Zhang H, et al. Functional definition and global regulation of Zur, a zinc uptake regulator in a Streptococcus suis serotype 2 strain causing streptococcal toxic shock syndrome. Journal of Bacteriology, 2008, 190(22):7567-7578.

[58]. Gruening P, Fulde M, Valentinweigand P, et al. Structure, Regulation, and Putative Function of the Arginine Deiminase System of Streptococcus suis. Journal of Bacteriology, 2006, 188(2):361-369.

[59]. Houde M, Gottschalk M, Gagnon F, et al. Streptococcus suis capsular polysaccharide inhibits phagocytosis through destabilization of lipid microdomains and prevents lactosylceramide-dependent recognition. Infection & Immunity, 2012, 80(2):506-517.

[60]. Musyoki AM, Shi Z, Xuan C, et al. Structural and functional analysis of an anchorless fibronectin-binding protein FBPS from Gram-positive bacterium Streptococcus suis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016,

113(48):13869-13874.
[61]. Roy D, Athey TBT, Auger JP, et al. A single amino acid polymorphism in the glycosyltransferase CpsK defines four Streptococcus suis serotypes. Scientific Reports, 2017, 7(1):4066.
[62]. Smith HE, Vries RD, Slot RVT, et al. The cps locus of Streptococcus suis serotype 2: genetic determinant for the synthesis of sialic acid. Microbial Pathogenesis, 2000, 29(2):127-134.

New progress in the study of *Streptococcus suis* type 2 virulence factors

LIU Jing-xian[1] HE Xin[1] HAN Hui-ming[1,2]

(1 Basic Medical College, Beihua University, Jilin 132013, China)

(2 The Clinical Immunology Research Center, Beihua University, Jilin 132013, China)

Abstract *Streptococcus suis* is an infectious Gram-positive bacterium. *Streptococcus suis* serotype 2 (*S. suis* 2, SS2) is an important zoonotic pathogen that severely affects the swine breeding industry and causes human mortality rates of between 5% and 20%. Its virulence factors play an important role in the pathogenesis. In recent years, there were many new advances in the virulence factors of SS2. in the pathogenic mechanism, and there were either new knowledge for effective prevention and control of the disease. In this paper, the recent progress in the virulence-related factors of SS2, e.g. proteins, enzymes, the virulence factor gene expression two-component system and type IV secretion system which interaction to host immune system were summarized. There were valuable references for the treatment of SS2 and vaccine development.

Keywords Streptococcus suis serotype 2 Virulence factor Pathogenesis